應用微生物捕食性線蟲 *Aphelenchus avenae* 防治亞麻、黃麻腰折病之研究[1]

Studies on the Control of *Rhizoctonia* Damping-off of Flax and Jute by Mycophagous Nematode, *Aphelenchus avenae*

程永雄[2] 杜金池[3]

一、前　言

Aphelenchus avenae 是 Bastian 氏在 1865 年最早發現爲微生物捕食性線蟲（Mycophagous nematode）之一種，廣泛分佈於作物之腐爛球莖、塊莖及根等。此種線蟲由於具有這些生活習性，故一般列爲腐生性線蟲（Saprophagous）類。1936年 Christie 及 Arndt 兩氏[(3)]發現 *A. avenae* 在眞菌 *Neurospora sitophilla* 上穿刺菌絲時，攝食菌絲內容物。1963年 Mankau R. 和 Mankaus. K. [(9)]發現 *A. avenae* 易在多種眞菌類上培養繁殖。由上述各學者之研究結果，證實植物病原眞菌類爲 *A. avenae* 最適當之寄主。1964年 Barker 氏[(2)]曾報導 *A. avenae* 在 *Rhizoctonia solani* Kuhn 不同菌株上，有不同之繁殖能力，並且利用 *A. avenae* 之攝食，可以減少 *R. solani* 所引起之危害。1959 年 Rhoades 和 Linford 兩氏[(10)]應用 *A. avenae* 能有效地防治 *Pythium arrhenomanes* 所引起玉米之根腐病（Root rot）。

微生物捕食性線蟲在眞菌上，及其他寄生性線蟲在高等植物上之侵入及攝食方式，Linford 氏[(8)]曾加以描述，氏謂線蟲口針貫穿細胞壁，必須蟲體安住在土壤之顆粒及水膜之中，藉口針衝刺才告成功。然後線蟲之分泌物，進入寄主組織，使寄主之原生質適合於線蟲攝食（Doncuster）[(4)]。但亦有直接攝食細胞內容物者（Tayler, D. P & Pillai, 1967）。*A. avenae* 即屬於後者（Christiei & Arndt, Linford）[(3,7)]。

鑑於前人之研究結果，筆者等對 *A. avenae* 在引起亞麻、黃麻腰折病之病原菌 *R. solani* 上餵食習性，不同溫度、濕度對 *A. avenae* 在 *R. solani* 上繁殖之影響，以及多少線蟲量才能制止土壤內 *R. solani* 之活動等問題加以探究，期能應用 *A. avenae* 防治纖維作物的重要病害。

二、材料與方法

（一）試驗材料：

1.供試作物

亞麻：本省目前推廣之品種——臺中選一號

黃麻：本省目前推廣之品種——臺農一號

2.接種源

（1）*Rhizoctonia solani* 菌株K—1，係民國59年自本分所農場棉幼苗罹腰折病株分離鑑定

1.試驗報告農試字第六四三號、臺南棉麻試驗分所研究報告新第85號。本研究之完成得國家科學委員會之補助。稿成承農復會羅技正宗爵校閱修正，謹此申謝。

2.臺灣省農業試驗所臺南棉麻試驗分所薦任技士。

3.臺灣省農業試驗所臺南棉麻試驗分所技正兼植物保護系主任。

，並純化保存於馬鈴薯培養基，每隔月更新於馬鈴薯蔗糖培養基一次者。

（2）*Aphelenchus avenae* 係採自本分所農場棉田砂質壤土，依改良柏門氏漏斗法分離而得，經鑑定爲 *A. avenae*，以 0.1% Streptomycin sulfate 表面消毒，再經無菌水（distilled water）漂洗更新 4～5 次，然後移接於 Potato-sugar-Agar（PSA）28°C 生長 5 天之 *Rhizoctonia solani* 上繁殖保存備用。

（二）試驗方法：

一、溫度對 *Aphelenchus avenae* 繁殖之影響

以1.8公分之試管裝 10ml PSA 作成斜長 8 公分之斜面培養基，在中央移植 *R. solani* 置於 28°C 5 天，待菌絲長滿後，每支試管接 2nd 齡大小相近之 *A. avenae* 各 10隻，分別置於 10°C、20°C、30°C 及 40°C 等四級不同溫度之恆溫箱內，每隔 10天，每處理各取出 4 隻試管，洗出線蟲，調查其增殖情形，比較不同溫度對 *A. avenae* 繁殖之影響，調查至一個月爲止。

二、濕度對 *Aphelenchus avenae* 繁殖之影響

以消毒過 100ml 三角瓶裝經蒸氣消毒過之砂質壤土30公克接種 *R. solani* 菌絲懸浮液，三天後每瓶接種 *A. avenae* 10隻。然後依下列公式：

$$\text{土壤含水量}=\frac{B-C}{C-A}\times 100$$

B＝未烘乾土重加瓶重　C＝烘乾土加瓶重　A＝瓶重（烘乾土重係經 105°C24hr 而測得）以無菌水調查土壤含水量，使成 10、20、30及40% MHC（Moisture holding capacity）等四等級，置於 30°C 定溫箱內，每隔10天，分別取出，依遠心分離比重法調查線蟲增殖情形，以比較處理間之差異。

三、*Aphelenchus avenae* 在 *Rhizoctonia solani* 上吸食之習性

供試線蟲 *A. avenae* 自保存在試管培養之 *R. solani* 上再加無菌水洗得，經10°C 3 天之飢餓處理，以供本項之餵食觀察。90cm 培養皿內置凹面載玻片一片，經乾熱殺菌，以無菌手續在載玻片之凹面上滴 15ml 之1.5% Tap-water Agar, 在其上接種 *R. solani*, 置於 28°C 1 天，然後挑取經處理之 *A. avenae* 於 Agar 上，加上蓋玻片，在顯微鏡下守望觀察線蟲在 *R. solani* 上吸食之情形。

四、利用微生物捕食性線蟲 *A. avenae* 防治亞麻、黃麻腰折病

本項試驗進行前15天，在培養瓶（9cm×6cm）平板培養基上生長之 *R. solani* 上大量培養繁殖 *A. avenae*, 供接種使用。*R. solani* 是培養在 250ml Erlenmeyer flask 內之 Czapeck's solution 100 ml內，在振盪器（Shaker）16rpm, 28°C 培養 5 天，挑取菌絲塊，經無菌水漂洗 3 次，濾紙吸濕後，加等量無菌水100 ml 在 waring blender 高速攪動 30 秒鐘，使成菌絲懸浮液（Mycelial suspension）供接種用。爲線蟲及腰折病發生調查之方便計，以陶土栽盆（12cm）盛裝無菌海沙，供下列之接種處理：

1. 每栽盆（113cm^2）接種 *A. avenae* 17,100隻，加 *R. solani* 30ml 菌絲懸浮液。
2. 每栽盆接種 *A. avenae* 8,550隻，加 *R. solani* 30ml 菌絲懸浮液。
3. 每栽盆接種 *A. avenae* 1,710隻，加 *R. solani* 30ml 菌絲懸浮液。
4. 每栽盆接種 *A. aveuae* 171隻，加 *R. solani* 30ml 菌絲懸浮液。
5. 每栽盆單獨接種 *A. avenae* 17,100隻。
6. 每栽盆單獨接種 *A. avenae* 8,550隻。
7. 每栽盆單獨接種 *A. avenae* 1,710隻。
8. 每栽盆單獨接種 *A. avenae* 171隻。
9. 每栽盆單獨接種 *R. solani* 30ml 菌絲懸浮液。
10. 對照——不接種線蟲及病原菌。

以上10種處理，每處理 4 重複，重複 3 次。置於有溫度控制設備之試驗室 28°C 左右，植物生長燈照明12小時下，分別於處理後10天、20天及30天等三種不同時期播種亞麻或黃麻。自萌芽後逐日調查病害發生情形，至15天為止。試驗終了時小心拔取植株，鏡檢根部被害情形。罹病程度分成四等級：0＝健全，1＝地上部健全，但有輕微之根腐，2＝輕微之 Post-emergence damping-off 及根腐，3＝嚴重之 Post-emergence damping-off 及根腐，4＝腰折萎凋死亡等求罹病指數。並自每處理各採土重100公克，依遠心分離機土壤比重法，分離土壤內線蟲，調查土壤內 *A. avenae* 之密度消長情形。

三、試驗結果

一、溫度對 *Aphelenchus avenae* 繁殖之影響

A. avenae 餵食在 *R. solani* 菌上，分別置在 10°C、20°C、30°C 及40°C 等四級不同溫度下生長，並分別自處理後10天、20天及30天等三個不同時期取出，以水冲洗出線蟲，在解剖顯微鏡下調查線蟲增殖情形。在四級不同溫度下，*A. avenae* 之繁殖以 30°C 最適宜，10 天後由原來10隻增殖為7,426隻，20天後增加為36,312隻，至30天則增殖為137,766隻，約增殖原先之一萬三千倍以上。次之為 20°C，線蟲在此環境下生長，30天後其蟲口數為53,501隻。惟在低溫 10°C 之環境下，*A. avenae* 則停止活動與繁殖，但未致死。高溫 40°C 下，線蟲即死亡。詳細如表 1 。

表1　不同溫度對 *A. avenae* 繁殖之影響 *

Table 1. Influence of temperature on the reproduction of *A. avenae*

處理溫度 Temp. (°C)	原先線蟲接種數 Initial nematode	最後線蟲數 Final nematode					
		處理後 10 天 10 days after inoculation		處理後 20 天 20 days after inoculation		處理後 30 天 30 days after inoculation	
10 °C	10	10.0	c	5.3	c	4.7	c
20 °C	10	3913.0	b	22539.3	b	53501.3	b
30 °C	10	7426.0	a	36312.2	a	137766.3	a
40 °C	10	0	c	0	c	0	c

*1 表列數字為四重複之平均值 (The nematode numbers were the average of 4 replications)

2 表列小體英文字母相同者係依 Duncan's 多種變域測驗法測得 5 %不顯著者 (Column means followed by the same letter were not significantly different (P=0.05) according to Duncan's Multiple Range Test)

二、濕度對 *Aphelenchus avenae* 繁殖之影響

A. avenae 在不同土壤含水量10、20、30及40% MHC 等之 *R. soloni* 病土中生長，分別自處理後10天、20天及30天等三個不同時期取出，依遠心分離比重法收集線蟲，調查比較不同土壤含水量對線蟲繁殖之影響。得知四種處理中以 20% MHC 環境下最適宜於線蟲之繁殖，處理後10天線蟲由10隻增為77隻，20天後增加為144隻，至30天時增加為266隻。其次為在土壤濕度 10% MHC 環境下 *A. avenae* 經30天生長後 10隻增殖為 88隻。在高土壤濕度 40% MHC 下線蟲生長不良，處理 30天後線蟲即有逐漸死亡之現象。(表 2)

三、*Aphelenchus avenae* 在 *Rhizoctonia solani* 之吸食習性

供試捕食性線蟲 *A. avenae* 在腰折病原菌 *R. solani* 上吸食習性，在顯微鏡下觀察結果，線蟲

表 2　不同土壤濕度對 *A. avenae* 繁殖之影響*

Table 2. Influence of soil moisture on the reproduction of *A. avenae*

土壤濕度 Soil Moisture (%MHC)	原先線蟲接種數 Initial nematode	最後線蟲數 Final nematode					
		處理後10天 10 days after inoculation		處理後20天 20 days after inoculation		處理後30天 30 days after inoculatipon	
10% MHC	10	30.0	bc	72.0	b	88.5	b
20% MHC	10	77.5	a	144.5	a	266.0	a
30% MHC	10	38.5	b	44.5	bc	52.0	c
40% MHC	10	17.5	c	19.5	c	8.0	d

*1 表列數字為四重複之平均值 (The nematode numbers were the average of 4 replications)

2 表列小體英文字母相同者係依 Duncan's 多種變域測驗法測得 5 %不顯著者 (Column means followed by the same letter was not significantly different (P=0.05) according to Duncan's Multiple Range Test)

之吸食腰折病原菌之細胞之內容物在10～15秒鐘瞬間即吸空，如圖 1 。

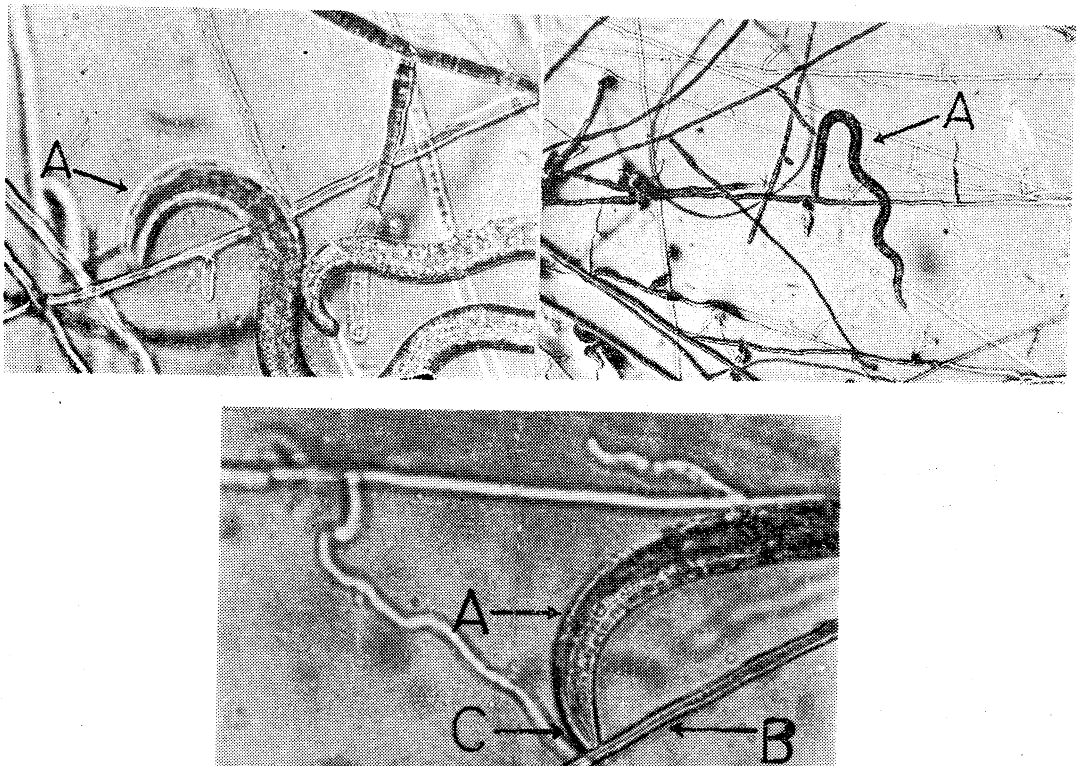

Fig. 1　*Aphelenchus avenae* feeding on *Rhizoctonia solani* : A. *Aphelenchus avenae*. B. *Rhizoctonia solani*. C. Stylet of nema.

四、利用微生物捕食性線蟲 *Aphelenchus avenae* 防治亞麻、黃麻腰折病

利用能捕食 *R. solani* 之線蟲 *A. avenae* 分成每栽盆 ($113cm^2$) 17,100隻、8,550隻、1,710隻及 171隻等四種不同線蟲接種數，以防治亞麻腰折病發生。分別於處理後 10天、20天、30天等三個不同時期播種亞麻。自萌芽後逐日調查腰折病之發生情形，至15天拔取植株，調查根腐 (Root rot) 情形，發現每栽盆線蟲接種數以 8,550隻最能防治腰折病之發生。處理後10天方播種亞麻者，罹病指數僅爲0.16，處理後20天播種者爲0.17，處理後30天播種者罹病指數爲○，完全有效控制腰折病之發生。其次爲每栽盆接種 1,710隻者，亦有良好之防治效果，處理後 10天播種者其罹病指數僅0.69，處理後20天播種者爲0.51，處理後30天才播種者爲0.34 (表 3)。然而每栽盆接種17,100隻線蟲者罹病指數反而有增加之趨勢。分別於處理後10天、20天及30天播種者其罹病指數各別爲0.93、0.69及0.51。利用 *A. avenae* 防治黃麻腰折病之發生亦得相同之結果，每栽盆接種1,710隻，10天後播種黃麻者其罹病指數爲 9.43，處理後30天播種者其罹病指數減少爲 2.08。每栽盆接種8,550隻，10天後播種者其罹病指數爲 13.04，處理後30天播種者其罹病指數減少爲3.71。每栽盆接種 17,100隻，30天後播種者其罹病指數反增加爲18.24 (表 3)。單獨接種線蟲對亞麻、黃麻植株之生長並無影響。

表 3　利用 *Aphelenchus avenae* 防治亞麻、黃麻腰折病之效果

Table 3. The efffect of inoculum concentration of *Aphelenchus avenae* on damping-off development on flax and jute

接種源 Inoculum	亞麻 (Flax) 罹病指數 (Disease index) 處理後10天播種 Sowed at 10 days after inoculation		處理後20天播種 Sowed at 20 days after inoculation		處理後30天播種 Sowed at 30 days after inocuation		最後線蟲數 (Final namatodes /pot) 處理後10天播種 Sowed at 10 days after inoculation		處理後20天播種 Sowed at 20 days after inoulation		處理後30天播種 Sowed at 30 days after inoculation	
Rhizoctonia solani	28.61	b	30.98	b	27.08	b	0	g	0	g	0	f
R. solani+17,100 nematodes	0.93	a	0.69	a	0.51	a	778	a	425	a	361	a
〃 + 8,500 〃	0.16	a	0.17	a	0	a	442	b	348	b	242	b
〃 + 1,710 〃	0.69	a	0.51	a	0.34	a	166	d	119	de	55	c
〃 + 171 〃	3.87	a	2.21	a	0.85	a	111	ef	64	fg	42	ef
17,100 nematodes	0	a	0	a	0	a	435	b	250	c	193	c
8,500 〃	0	a	0	a	0	a	295	c	156	d	131	d
1,710 〃	0	a	0	a	0	a	139	de	90	ef	25	ef
171 〃	0	a	0	a	0	a	48	fg	28	g	15	ef
Control	0	a	0	a	0	a	0	g	0	g	0	f

接種源 Inoculum	黃麻 (Jute) 處理後10天播種 Sowed at 10 days after inoculation	處理後20天播種 Sowed at 20 days after inoculation	處理後30天播種 Sowed at 30 days after inoculation	處理後10天播種 Sowed at 10 days after inoculation	處理後20天播種 Sowed at 20 days after inoculation	處理後30天播種 Sowed at 30 days after inoculation
	罹病指數 (Disease index)			最後線蟲數 (Final nematodes /pot)		
Rhizotonia solani	34.23 c	39.49 d	47.18 d	0 e	0 e	0 e
R. solani+17,100 nematodes	13.82 b	17.64 c	18.24 c	810 a	756 a	427 a
〃 + 8,500 〃	13.04 b	10.00 abc	3.71 abc	330 c	334 b	185 b
〃 + 1,710 〃	9.43 ab	6.02 ab	2.08 ab	194 d	189 c	126 bc
〃 + 171 〃	14.34 b	13.23 bc	16.67 bc	198 d	136 cd	55 cde
17,100 nematodes	0 a	0 a	0 a	438 b	318 b	184 b
8,500 〃	0 a	0 a	0 a	334 c	168 cd	102 bcd
1,710 〃	0 a	0 a	0 a	164 de	99 de	43 cde
171 〃	0 a	0 a	0 a	81 e	39 e	20 de
Control	0 a	0 a	0 a	0 e	0 e	0 e

*1. 表列數字爲四重複之平均值，每栽盆視同一重複，重複試驗 3 次（本試驗在室溫 28-30°C 土壤濕度 20-25 % MHC下進行）

(The nematode numbers were the average of 4 replications, each pot was considered as a replication)

2. 最後線蟲數爲種子萌芽後15天之調查結果，依遠心分離機比重法分離而得。

(Final nematode numbers were obtained by using centrifuge method at 15 days after seed germination)

3. 表列小體英文字母相同者係依 Duncan's 多種變域測驗法則得 5 %不顯著者。

(Column means followed by the same letter was not significantly different (P=0.05) according to Dancan's Multiple Rage Test)

四、討論與結論

利用 *A. avenae* 4種不同線蟲濃度與 *R. solani* 病土內接混合接種試驗結果，顯示在每栽盆 (113cm^2) *R. solani* 病土內接種線蟲1,710～8,550隻，能有效防治亞麻、黃麻腰折病發生。線蟲接種數過多 (17,100隻/113cm^2) 其防治效果反而不良。反之，線蟲接種數 (171隻/113cm^2) 過少，結果亦不良。*Klink* 和 *Barker*(6) 曾報告若土壤中線蟲密度過高，則有多數線蟲侵害根羣，線蟲在根羣生存與繁殖可加速根部之衰退。然而每 113cm^2 之病土內接種線蟲1,710～8,550隻之處理則僅有相當少之線蟲侵入根部。又在播種前預先接種 *A. avenae* 更能有效防治腰折病發生。在播種前30天每栽盆 *R, solani* 病土內接種 *A. avenae* 1,710～8,550隻，其防治效果最爲顯著。Barker[2] 報導

*A. avenae*吸食破壞 *R. solani* 是在後者侵入寄主植物前或正侵入中進行之，本試驗之結果亦同（表3）。

溫度是影響 *A. avenae* 繁殖之一重要環境因子，在適當之溫度 30°C，*A. avenae* 餵食在 *R. solani* 上經過30天可增殖原先線蟲數一萬三千倍之多，在低溫 10°C 下線蟲停止生長與繁殖，在高溫 40°C 經10天即死亡。土壤濕度與線蟲之繁殖亦有密切關係，一般當土壤濕度增加時可減少土壤中線蟲之生存數，而以土壤濕度 20% MHC 對線蟲之繁殖最適宜。

A. avenae 在 *R. solani* 之吸食習性，餵食前頭唇部不停左右擺動進行探索，一直到唇部與菌絲細胞接觸，頭唇部與細胞成垂直狀（圖1），然後靠口針衝刺數次而貫穿細胞壁，吸取細胞內容物（8）。*A. avenae* 在 *R. solani* 菌絲上餵食，一個細胞之內容物在10～15秒鐘內即被吸空。

總之，在適當之溫度與土壤濕度下，每栽盆（113cm²）之 *R. solani* 病土內接種 *A. avenae* 1,710—8,550隻，能有效防治亞麻、黃麻腰折病之發生。至於田間應用，實有待更進一步對線蟲之生態及土壤微生物相之研究。

五、摘　　要

應用捕食性線蟲 *Aphelenchus avenae* 防治亞麻、黃麻腰折病，室內盆栽試驗結果，發現在每栽盆（113cm²）*Rhizoctonia solani* 病土內接種 *A. avenae* 1,710—8,550 隻，能有效防治亞麻、黃麻腰折病之發生，接種之線蟲數過多或過少，均無良好防治效果。

A. avenae 在 *R. solani* 之菌絲上餵食，一個細胞的內容物在15秒鐘內即可被吸空。線蟲在餵食前其頭唇部左右擺動探索，直至與菌絲細胞接觸，而口針與細胞壁成垂直狀。

在適當溫度 30°C 下，*A. avenae* 之繁殖速度最快，而過於低溫 10°C 或高溫 40°C 均不良於生長。土壤濕度亦是影響線蟲繁殖之一重要因子，一般在高土壤濕度 40%MHC 環境下，線蟲生存數目會逐漸減少，而在土壤濕度 20%MHC 下，最適宜於 *A. avenae* 之繁殖生長。

六、參考文獻

1. Anderson, R. V. (1964). Feeding of *Ditylenchus destructor*. Phytopathology 54 : 1121–1126.
2. Barker, K. R. (1964). on the disease reduction and reproduction of the nematode *Aphelenchus avenae* on isolates of *Rhizoctonia solani*. Plant Dis. Reptr. 48 : 428–432.
3. Christie, J. R., & Arndt, C. H. (1936). Feeding habits of the nematodes *Aphelenchoides parietinus* and *Aphelenchus avenae*. Phytopathogy 26 : 698–701.
4. Doncaster, C. C. (1966). Nematode feeding mechanisms. 2. Observations on *Ditylenchus destructor* and D. *myceliophagus* feeding on *Botrytis cinerea* Nematologica 12, 417–427.
5. Hechler, H. C. (1962). The description, feeding habits and Life–history of *Neotylenchus linfordi* n. sp., *mycophagous* nematode. Proc. helminth. Sob . Wash. 24, 19–27.
6. Klink J. W. & Barker, K. R. (1968). Effect of *Aphelenchus avenae* on the surval and *p*athogenic activity of root–rotting fungi. Phytopathology 58 : 230–232.
7. Linford, M. B. (1937a). The feeding of some hollow–stylet nematodes. Proc. helminth. Soc. Wash. 4. 42–46.
8. ________. (1942). The transient feeding of root–knot nematode larvae. Phytopathology 32 : 580–589.
9. Mankau, R., & S. K. Mankau. (1963). The role of *mycophagous* nematodes in the soil. I. The relationships of *Aphelenchus avenae* to phytopathogenic fungi, p. 271–280. In J. Doeksen and F. van der Drift ed. Soil organisms. North–Holland publ. Co., Ams–

terdam.
10. Rhoades, H. L., and Linford, M. B. (1959). Control of *Pythium* root rot by the nematode *Aphelenchus avenae*. Plant Dis. Reptr. 43 : 323-328.

STUDIES ON THE CONTROL OF *RHIZOCTONIA* DAMPING-OFF OF FLAX AND JUTE BY MYCOPHAGOUS NEMATODE, *APHELENCHUS AVENAE* [1]

by

Yung-Hsiung Cheng and Chin-Chyu Tu[2]

Summary

The results showed that, in general, for all the fungus-nematode combinations studied, an inital population of *A. avenae* at approximately 1710-8550 nematodes gave the best control of flax damping-off in 133cm^2 of *R. solani* sick soil. Both higher and lower populations gave poorer control of the disease. Similar resuslts were obtained from *Rhizoctonia* daming-off of Jute.

A. avenae removed cell contents of hyphal cell of *R. solani* in a feeding cycle of about 15 sec. duration. The nematodes probed with its lips before feeding, turning its head from side to side until its lips touched a host cell. The nematode oriented its stylet against the cell wall at a right angle to the cell surface.

The rate of population increae of *A. avenae* was great at moderate temperature (30°C), and was least at both very low (10°c) or very high temperature (40°C). Soil moisture was also an important environmental factor affecting population growth. In general, the number of nematodes surviving in soil decreased with the increase of soil moisture. The optimum growth soil moisture was 20%MHC.

---

1. Serial No. (Q) 643. This research work was accomplished with the financial support of the National Science Council to the first author.
2. Plant Pathologist, and Senior Plant Pathologist, and Chief of Plant Protection Department, The Fiber Crops Experiment Station, TARI.